



(19) RU<sup>(11)</sup> 2 191 599<sup>(13)</sup> C1

(51) МПК<sup>7</sup> A 61 K 39/116, C 12 N 1/20// (A 61 K 39/116, 39:02, 39:07, 39:114), (C 12 N 1/20, C 12 R 1:07)

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 2001129336/13, 01.11.2001  
(24) Дата начала действия патента: 01.11.2001  
(46) Дата публикации: 27.10.2002  
(56) Ссылки: RU 2098127 C1, 10.12.1997. RU 2112544 C1, 10.06.1998. RU 2141340 C1, 20.11.1999. RU 2098128 C1, 10.12.1997. EP 0366550 A1, 25.10.1989. FR 2638090 A1, 25.10.1988. RICHARD CL. Bull. Soc. Veter. Pratique France. 1977, t.6, n.5, p.307-309.  
(98) Адрес для переписки:  
141142, Московская обл., Щелковский р-н, п. Биоккомбинат, 5, кв.97, Н.В. Мельнику

(71) Заявитель:  
Караваев Юрий Дмитриевич,  
Селиверстов Василий Витальевич,  
Мельник Николай Васильевич,  
Скичко Николай Данилович,  
Гаврилов Владимир Андреевич  
(72) Изобретатель: Караваев Ю.Д.,  
Селиверстов В.В., Мельник Н.В., Скичко Н.Д.,  
Гаврилов В.А., Семенова И.Н., Числов Ю.В., Зенов Н.И.  
(73) Патентообладатель:  
Караваев Юрий Дмитриевич,  
Селиверстов Василий Витальевич,  
Мельник Николай Васильевич,  
Скичко Николай Данилович,  
Гаврилов Владимир Андреевич

(71) Заявитель (прод.):  
Семенова Ильвира Николаевна, Числов Юрий Васильевич, Зенов Николай Иванович  
(73) Патентообладатель (прод.):  
Семенова Ильвира Николаевна, Числов Юрий Васильевич, Зенов Николай Иванович

(54) АССОЦИИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ И НЕКРОБАКТЕРИОЗА ЖИВОТНЫХ

(57) Реферат:  
Изобретение относится к области ветеринарии и биотехнологии. Ассоциированная вакцина содержит адсорбированный на гидроокиси алюминия инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, суспензию живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с исходной концентрацией  $(5-5,5) \cdot 10^9$  спор/см<sup>3</sup> в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адъювант. Компоненты вакцины содержатся в сбалансированном соотношении. Лейкоцидин-экзотоксин представляет собой высокоочищенный белок

с молекулярной массой 18-20 кДа. Он получен из производственного штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ. Ассоциированную вакцину вводят однократно крупному рогатому скоту, овцам, козам, свиньям и северным оленям внутрикожно при помощи безыгольного инъектора в объеме 0,2-0,4 см<sup>3</sup>. Ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза является высокоэффективным препаратом, способным защитить животных одновременно от сибирской язвы и некробактериоза, и по иммуногенности превосходит составляющие ее моновакцины.



RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 191 599** <sup>(13)</sup> **C1**

(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **A 61 K 39/116, C 12 N**

**1/20/(A 61 K 39/116, 39:02,  
39:07, 39:114), (C 12 N 1/20, C 12  
R 1:07)**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2001129336/13, 01.11.2001

(24) Effective date for property rights: 01.11.2001

(46) Date of publication: 27.10.2002

(98) Mail address:  
141142, Moskovskaja obl., Shchelkovskij r-n,  
p. Biokombinat, 5, kv.97, N.V. Mel'niku

(71) Applicant:  
Karavaev Jurij Dmitrievich,  
Seliverstov Vasilij Vital'evich,  
Mel'nik Nikolaj Vasil'evich,  
Skichko Nikolaj Danilovich,  
Gavrilov Vladimir Andreevich

(72) Inventor: Karavaev Ju.D.,  
Seliverstov V.V., Mel'nik N.V., Skichko  
N.D., Gavrilov V.A., Semenova I.N., Chislov  
Ju.V., Zenov N.I.

(73) Proprietor:  
Karavaev Jurij Dmitrievich,  
Seliverstov Vasilij Vital'evich,  
Mel'nik Nikolaj Vasil'evich,  
Skichko Nikolaj Danilovich,  
Gavrilov Vladimir Andreevich

(71) Applicant (cont.):  
Semenova Il'vira Nikolaevna, Chislov Jurij Vasil'evich, Zenov Nikolaj Ivanovich

(73) Proprietor (cont.):  
Semenova Il'vira Nikolaevna, Chislov Jurij Vasil'evich, Zenov Nikolaj Ivanovich

(54) **ASSOCIATED VACCINE FOR PROPHYLAXIS OF ANTHRAX AND NECROBACTERIOSIS IN ANIMALS**

(57) Abstract:

FIELD: veterinary science, biotechnology.  
SUBSTANCE: vaccine contains aluminium  
hydroxide-adsorbed formalin-inactivated  
leucocidine- exotoxin, suspension of alive  
spores of anthracic vaccine strain 55-VNIIVV&M  
at initial concentration being  
(5-5,5)•10<sup>9</sup> spores/cm<sup>3</sup> in physiological  
solution, 1 M-sodium metabisulfite solution  
and an oily adjuvant. Vaccine components are  
in a balanced ratio. Leucocidine-exotoxin is  
a highly purified protein at 18-20 kDa

molecular weight. It is obtained out of  
production strain Fusobacterium necrophorum  
"0-1" VIEV. Associated vaccine is once  
injected for cattle, sheep, goats, pigs and  
Siberian stags intracutaneously with the  
help of a needle-free injector at 0.2-0.4  
cm<sup>3</sup> volume. Associated vaccine against  
anthrax and necrobacteriosis is a highly  
efficient preparation to protect animals  
against these diseases, according to its  
immunogenicity it surpasses monovaccines  
that it contains. EFFECT: higher efficiency  
of prophylaxis. 2 ex

RU 2 191 599 C1

RU 2 191 599 C1

Изобретение относится к области ветеринарии и биотехнологии и касается получения вакцины для профилактики сибирской язвы и некробактериоза животных.

Известна вакцина для профилактики некробактериоза рогатого скота, содержащая в равных объемных соотношениях инаktivированные формалином эндотоксин и экзотоксин, полученные из местных эпизоотических культур возбудителя некробактериоза, и адъювант на основе минерального масла и ланолина (Патент RU 1816348, А 61 К 39/00, 1995).

Однако известная вакцина не достаточно иммуногенна, так как требует двукратного введения и обеспечивает иммунитет только против некробактериоза в течение 3,5-4 мес. Кроме того, при получении вакцины осуществляют предварительный подбор местных штаммов для каждого конкретного хозяйства, что невозможно при промышленном производстве.

Известна вакцина против сибирской язвы животных, содержащая суспензию живых спор бескапсульного авирулентного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ возбудителя сибирской язвы (ТУ 9388-004-00008064-99)

Известна также инаktivированная вакцина против некробактериоза животных, содержащая инаktivированные формалином эндотоксин и экзотоксин, полученные из производственного штамма "0-1" ВИЭВ возбудителя некробактериоза, и адъювант на основе минерального масла и ланолина (Патент RU 2109519, А 61 К 39/02, 1998).

Существующие моновакцины применяют независимо друг от друга и не создают иммунитет у животных одновременно против сибирской язвы и некробактериоза. Использование этих вакцин в отдельности требует удвоенного количества трудозатрат и оказывает более сильное стрессовое состояние животных.

Известна ассоциированная вакцина против сибирской язвы, анаэробной дизентерии и инфекционной энтеротоксемии овец, содержащая суспензию жизнеспособных спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ в исходной концентрации  $(3-4) \cdot 10^8$  спор в 1 см<sup>3</sup>, анатоксины *Cl.perfringens* типов С с исходной активностью 100-150 ЕС в 1 см<sup>3</sup> и Д с исходной активностью 60-80 ЕС в 1 см<sup>3</sup> и физиологический раствор (Патент RU 2141340, А 61 К 39/116, 1999).

Однако известная ассоциированная вакцина не обеспечивает создание иммунитета против сибирской язвы и некробактериоза.

Аналогов вакцины против сибирской язвы и некробактериоза не обнаружено.

Задачей изобретения является разработка высокоиммуногенной и безвредной ассоциированной вакцины против сибирской язвы и некробактериоза животных.

Технический результат изобретения заключается в получении эффективной ассоциированной вакцины против сибирской язвы и некробактериоза, обеспечивающей создание длительного напряженного иммунитета у крупного рогатого скота, овец, коз, свиней и северных оленей и превосходящей по иммуногенности известные моновакцины.

Сущность изобретения заключается в следующем: ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза содержит инаktivированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, представляющий собой высокоочищенный белок с молекулярной массой 18-20 кДа, полученный из производственного штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ и адсорбированный на гидроокиси алюминия, суспензию живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с исходной концентрацией  $(5-5,2) \cdot 10^9$  спор/см<sup>3</sup> в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адъювант при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Адсорбированный на гидроокиси алюминия инаktivированный формалином лейкоцидин - экзотоксин с м. м. 18-20 кДа из штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ с содержанием белка 5,5-6 мг% - 32,0 - 34,0

Суспензия живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с исходной концентрацией  $(5-5,2) \cdot 10^9$  в 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора - 1,0 - 1,2  
1М раствор метабисульфита натрия - 2,2-2,4

Масляный адъювант - Остальное

Ассоциированную вакцину вводят однократно крупному рогатому скоту, овцам, козам, свиньям и северным оленям внутривенно при помощи безыгольного инъектора в объеме 0,2-0,4 см<sup>3</sup>.

Предлагаемая ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза создает иммунитет у привитых животных одновременно против двух заболеваний, при этом по иммуногенности она превосходит все известные моновакцины против сибирской язвы и некробактериоза. Ассоциированная вакцина безвредна и авирулентна для лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Ассоциированную вакцину против сибирской язвы и некробактериоза готовят следующим образом.

Для получения некробактериозного антигена - лейкоцидин - экзотоксина берут производственный штамм *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ, культивируют, инаktivируют формалином в конечной концентрации 0,4%, отделяют бакмассу от культуральной жидкости

центрифугированием, из культуральной жидкости выделяют экзотоксин, подвергают его высокой очистке ультрафильтрацией на полых волокнах с размером пор 13-17 кДа и концентрируют до содержания белка (по Лоури) 5,5-6,0 мг%. Далее полученный антиген - лейкоцидин - эндотоксин сорбируют на гидроокиси алюминия. Лейкоцидин - эндотоксин содержит 5,5-6,0 мг% белка (лейкоцидина) с молекулярной массой 18-20 кДа. После сорбции антигена на гидрате окиси алюминия проверяют нейтрализацию остаточного количества формалина.

К 32,0 см<sup>3</sup> полученного некробактериозного компонента добавляют 2,3 см<sup>3</sup> 1 М раствора метабисульфита натрия. Смесь выдерживают 50 мин при t 20-25°C, периодически перемешивая. Затем

добавляют 1,2 см суспензии спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с концентрацией  $5 \cdot 10^9$  спор в 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора и 64,5 см<sup>3</sup> масляного адъюванта, например легкое минеральное масло "Маркопол-52". Вакцину эмульгируют в гомогенизаторе при 5000 об/мин в течение 20 мин.

Полученная вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета

Пример 2. Полученную по примеру 1 ассоциированную вакцину против сибирской язвы и некробактериоза применяют для профилактических и вынужденных прививок клинически здоровых животных однократно. Молодняк, не достигший 3-месячного возраста, прививать ассоциированной вакциной не разрешается. Вакцину вводят внутривенно с помощью безыгольного инъектора в бесшерстный участок тела крупному рогатому скоту и свиньям по 0,4 см<sup>3</sup> (2 раза по 0,2 см<sup>3</sup>) овцам, козам и северным оленям по 0,2 см<sup>3</sup>.

Устойчивость к заражению сибирской язвой и некробактериозом определяют по величине антител в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и реакции агглютинации (РА). У привитых овец титр противосибиреязвенных антител составил 1:160-1:320, титр противонекробактериозных антител 1:1024-1:2048, что свидетельствует о наличии иммунитета против сибирской язвы и некробактериоза.

При этом титр антител при введении ассоциированной вакцины значительно выше, чем при применении моновакцин, что свидетельствует о выработке более напряженного иммунитета. В сыворотках крови непривитых животных антител не

обнаружено.

Таким образом, ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза является высокоэффективным препаратом, способным защитить животных одновременно от сибирской язвы и некробактериоза, и по иммуногенности превосходит составляющие ее моновакцины.

### Формула изобретения:

Ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза, характеризующаяся тем, что она содержит инаktivированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, представляющий собой высокоочищенный белок с молекулярной массой 18-20 кДа, полученный из производственного штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ и адсорбированный на гидроокиси алюминия, суспензию живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с исходной концентрацией  $(5-5,2) \cdot 10^9$  спор/см<sup>3</sup> в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адъювант при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Адсорбированный на гидроокиси алюминия инаktivированный формалином лейкоцидин - экзотоксин с м.м. 18-20 кДа из штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ с содержанием белка 5,5-6 мг% - 32,0-34,0

Суспензия живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ с исходной концентрацией  $(5-5,2) \cdot 10^9$  в 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора - 1,0-1,2

1М раствор метабисульфита натрия - 2,2-2,4

Масляный адъювант - Остальное